

ラット疲労困憊運動後のTNF- α 産生能におよぼす 高炭水化物食摂取の影響

北村裕美, 湊久美子

Effect of high-carbohydrate diets on plasma TNF- α response after rat exhaustive exercise

Hiromi KITAMURA and Kumiko MINATO

要 約

運動後の免疫低下については、運動直前あるいは運動中の急性的な炭水化物摂取により、軽減される可能性を示す研究がいくつか報告されている。そこで本研究では、習慣的な高炭水化物食摂取が疲労困憊運動後の免疫応答にどのような影響を与えるかについて明らかにするため、Lipopolysaccharide (LPS) に対する血漿tumor necrosis factor (TNF)- α 濃度の変化から検討を行った。

Fischer344系雌ラット (7週齢, $n=16$) は、高炭水化物食(CHO) + 運動(Ex)群、CHO + 安静(R)群、標準食(NOR) + Ex群、NOR + R群に分け、一週間の食餌介入を行った。実験前夜は絶食とし、実験当日CHO + Ex群とNOR + Ex群にはトレッドミル走を速度漸増法にて疲労困憊に達するまで負荷し、CHO + R群とNOR + R群は安静を保持し、負荷終了後あるいは安静時麻酔下にて腸骨静脈よりLPS (1 mg/kg体重) を投与した。採血は負荷終了直後とLPS投与1時間後に行った。測定項目は、血漿コルチコステロン、TNF- α 、およびグルコース濃度であった。

疲労困憊に達するまでの運動時間は、食質の違いはみられなかった。標準食摂取において、LPS投与1時間後のTNF- α 濃度は疲労困憊運動により低下し、コルチコステロン濃度は上昇した。高炭水化物食摂取において、TNF- α とコルチコステロン濃度は、標準食摂取と同様の变化を示した。安静時グルコース濃度は、高炭水化物食摂取により上昇した。しかし運動後のグルコース濃度は標準食・高炭水化物食摂取ともに低下し、食質の違いはみられなかった。

以上のことから、一週間の高炭水化物食摂取は、運動前のグルコースレベルを上昇させるが、疲労困憊運動によって引き起こされるLPSに対するTNF- α 産生の低下には影響しない可能性が示唆された。

キーワード：疲労困憊運動、炭水化物、コルチコステロン、TNF- α 、LPS

緒 言

スポーツ活動は、身体的・精神的健康に有益であり、防衛体力としての免疫機能についても、中等度な運動習慣は一般的な感染症に対する抵抗力を増加させると考えられている。しかし一方で、高強度・長時間の運動は、免疫諸機能に対して様々な悪影響をおよぼすことが知られている。たとえば、疫学的研究によって、マラソン後に上気道感染症の感染リスクが増加することが報告されている¹⁾。

また、運動と感染リスクとの関係についての疫学調査をもとに、“open-window theory”²⁾や“Jカーブ”³⁾のようなモデルが提唱されている。これらのモデルにより、適度な運動は免疫機能を亢進させるが、過度の運動は免疫機能を低下させることが、広く認知されるようになった。このような運動時の免疫応答の機序については、運動により増加するアドレナリンやコルチゾール¹⁾、プロスタグランディンE2⁴⁾などの免疫抑制作用を有する物質による影響が指摘されてきているが、統一した見解には達していない。

一方、栄養条件が免疫機能に影響することはよく知られ、特に、低栄養、低たんぱく栄養条件では免疫機能が低下することが指摘されており、栄養条件が運動時の免疫応答に関与することも十分予想される。最近では、運動時の免疫応答に対する栄養学的アプローチによる検討が行われてきている。Bishopらは、運動前あるいは運動中の炭水化物摂取が、運動による免疫応答を変化させること、コルチゾールの増加を軽減させることを報告し、急性的な炭水化物摂取が運動後の免疫低下を軽減することを指摘している⁵⁾。また、Lancaster⁶⁾によっても、同様の実験結果が報告されており、炭水化物栄養と運動時の免疫応答についての関連性が指摘されている。しかし、いずれの報告も、運動前・運動中の急性的な炭水化物摂取の影響を検討しており、習慣的な高炭水化物栄養条件と運動時の免疫応答の関連性について検討した報告は見あたらない。

そこで本研究では、ラットを用いてLipopolysaccharide (LPS)に対するtumor necrosis factor (TNF)- α の血漿濃度の変化から、習慣的な高炭水化物食摂取が疲労困憊運動後の免疫応答にどのような影響を与えるかについて、検討を行った。

方 法

I. 実験動物

実験には、7週齢のF344系雌ラット（ $n=16$ 、チャールズリバー）を用いた。飼育条件は、 $22.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、7～19時が明期の12時間明暗サイクルとした。ラットは個別ケージで飼育し、水は自由摂取とした。なお、全ての実験は、「実験動物の飼養及び保管等に関する基準（昭和55年3月、総理府告示第6号）」に従い、行った。

II. 給 餌

標準食はAIN93M（オリエンタル酵母）であった。高炭水化物食は標準食よりも炭水化物を増やし、重量あたりのエネルギー量は標準食と同等に作成し用いた。炭水化物が重量あたりのエネルギー量に占める割合は、高炭水化物食は85.0%、標準食は75.6%であった。

III. 実 験

ラットは、予備飼育中小動物用トレッドミル（夏目製作所）を用いて、走行学習（傾斜15%、速度5–15m/min、時間15分）を行った。高炭水化物食(CHO) + 運動(Ex)群、CHO + 安静(R)群、標準食(NOR) + Ex群、NOR + R群に分け、一週間食餌の介入を行った。介入中の摂餌量は、等しくなるよう、CHO群の摂餌量をもとに調整した。実験前夜は絶食であった。

実験当日CHO + Ex群とNOR + Ex群にはトレッドミル走を速度漸増法にて疲労困憊に達するまで負荷し、CHO + R群とNOR + R群は安静を保持し、負荷終了直後エーテル麻酔下にて腸骨静脈よりLPS（1 mg/kg体重、シグマ）を投与し、その後採血を行い、縫合処置を行った。LPS投与1時間後、ペントバルビタール麻酔下にて開腹し、腹部大静脈より採血を行った。血液は、EDTAチューブ（Becton & Dickinson）に採取し、3000rpm、20分間の遠心分離後、血漿を -80°C にて保存した。凍結保存した血漿は、それぞれコルチコステロン、TNF- α 、およびグルコース濃度測定に用いた。

IV. 血漿TNF- α 、コルチコステロン、およびグルコース濃度の測定

TNF- α 濃度の測定には、Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay (ELISA) 法（rat TNF- α ELISAキット、Biosource）を用いた。コルチコステロン濃度の測定は、RIA法にてSRL（株）に委託し行った。グルコース濃度は、酵素法により測定した。

V. 統計処理

結果は、平均値 \pm 標準偏差で表した。2群間の検定は、 t 検定を行った。4群間の検定は一元配置の分散分析を行い、post hoc testにはFischer's PLSDを用いた。統計学的有意水準は、いずれも5%とした。

結 果

介入後の体重と介入中の摂餌量について、いずれの群にも有意な差はなかった (Table 1)。疲労困憊に達するまでの運動時間は、NOR+Ex群とCHO+Ex群に有意な差はなかった (Table 1)。

LPS投与1時間後の血漿TNF- α 濃度は、NOR+R群よりもNOR+Ex群の方が、CHO+R群よりもCHO+Ex群の方が有意に低く、NOR群、CHO群ともに疲労困憊運動による免疫低下が観察された (Fig. 1)。

血漿コルチコステロン濃度は、NOR+R群よりもNOR+Ex群の方が、CHO+R群よりも

Table 1 Body weight, dietary intake and exhaustion time

Group	Body weight (g)	Dietary intake (g)	Exhaustion time (min)
NOR+R	125.8 \pm 6.6	71.3 \pm 3.4	—
CHO+R	123.4 \pm 4.5	74.8 \pm 1.8	—
NOR+Ex	123.4 \pm 9.0	74.3 \pm 2.7	133 \pm 31
CHO+Ex	122.9 \pm 6.0	73.5 \pm 4.7	132 \pm 26

Values are mean \pm SD. NOR; normal diets, CHO; high-carbohydrate diets, R; rest, Ex; exhaustive exercise.

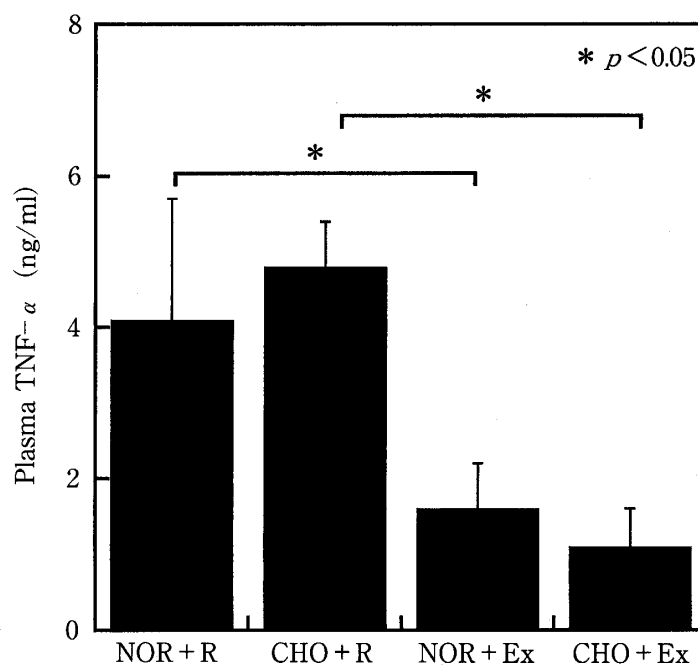


Fig. 1 The response of LPS-induced TNF- α in plasma.

CHO + Ex群の方が有意に高かった。しかし、食餌の違いはみられなかった (Fig. 2)。

血漿グルコース濃度は、NOR + R群よりもCHO + R群の方が有意に高く、一週間の高炭水化物食摂取の影響が観察された。また、NOR + R群よりもNOR + Ex群の方が、CHO + R

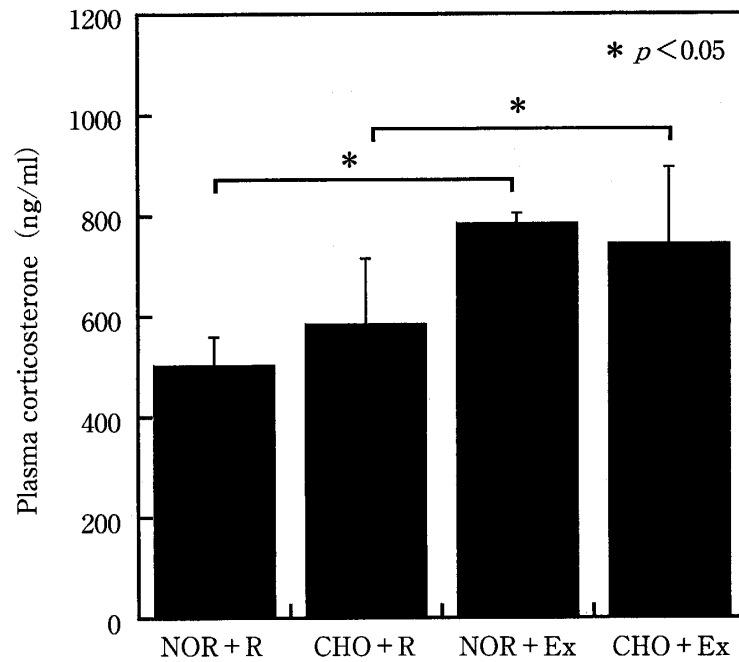


Fig. 2 Plasma corticosterone concentration.

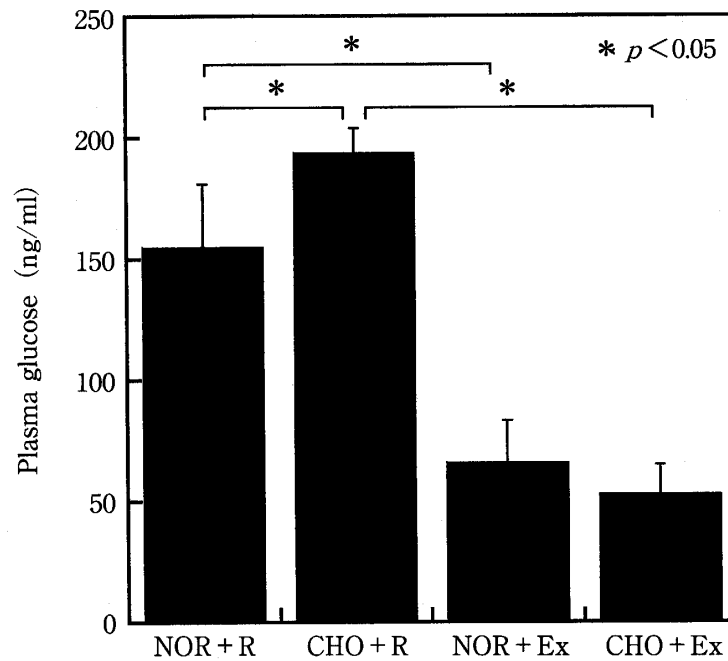


Fig. 3 Plasma glucose concentration.

群よりもCHO + Ex群の方が有意に低く、NOR群、CHO群ともに疲労困憊運動により低下した (Fig. 3)。

考 察

本研究では、運動後の免疫機能をLPSに対するTNF- α の血漿濃度変化によって評価した。LPSはマクロファージ由来のサイトカイン産生を強く誘導する物質であり、サイトカインは細胞増殖、機能活性や抑制など免疫機能を調整するはたらきを持つたんぱく質である。TNF- α は炎症性サイトカインと呼ばれ、炎症に深く関わるサイトカインである。

先行研究において、LPSを静注する前に疲労困憊運動を行うと、LPSに対するTNF- α 応答は低下することが報告されている⁷⁾。またWeinstockら⁸⁾は、ヒト血球細胞において、疲労困憊運動後にはLPSに対するTNF- α 応答が低下することを同様に報告している。本研究のNOR群においても、先行研究と同様に、疲労困憊運動後にはLPSに対するTNF- α 応答が低下し、疲労困憊運動が免疫機能を低下させることを確認した。

本研究では、この運動後の免疫低下に、習慣的な高炭水化物食摂取がどのような影響をおよぼすかについて実験を行った。高炭水化物食を一週間摂取しても、疲労困憊運動後のLPSによるTNF- α 産生は抑制され、高炭水化物食の影響はみられなかった。

Bagbyら⁷⁾は、疲労困憊運動を行ったラットではコルチコステロンの増加と、グルコースの減少を報告した。本研究の標準食においても、疲労困憊運動による血漿コルチコステロン濃度の増加、血漿グルコース濃度の減少が観察された。

血中グルコース濃度の低下は、視床下部—下垂体—副腎系を刺激するため、コルチゾール産生が高まることが指摘されている⁹⁻¹¹⁾。また、Nehlsen-Cannarella¹¹⁾らは、2.5時間走行直後の血漿グルコース濃度と血漿コルチゾール濃度の間は負の相関関係があったと報告した。本研究の高炭水化物食においては、標準食と同様に、疲労困憊運動による血漿コルチコステロン濃度の増加、血漿グルコース濃度の減少が観察された。しかし、安静時のグルコース濃度は標準食よりも高炭水化物食の方が高かった。すなわち、本研究で用いた高炭水化物食は、安静時のグルコース濃度を増加させたが、運動中や運動後のグルコース低下を抑制することはできなかった。したがって、習慣的な高炭水化物食摂取よりも急性的な運動前・中の炭水化物摂取が重要である可能性が示唆された。

コルチゾールは、TNF- α など炎症性サイトカイン産生の抑制やT細胞の機能低下など、免疫機能を抑制することが知られている。このことから、運動時に高グルコース状態を維持することは、コルチゾール分泌に対して抑制に作用し、免疫機能の維持に役立つと考えられ

ている。しかし、運動時の免疫低下にコルチゾールが直接的に関与していることを示す報告はみられない。運動時の免疫応答の機序について、特にコルチゾール変化と免疫応答とにどのような関係にあるかについては、今後さらに検討が必要である。

以上のことから、一週間の高炭水化物食摂取は、運動前のグルコース濃度を増加させるが、疲労困憊運動によって引き起こされるLPSに対するTNF- α 産生の低下には影響しない可能性が示唆された。運動時の免疫応答に対する栄養条件の影響については、栄養摂取のタイミングやその機序について、さらなる検討が必要であると考ええる。

謝 辞

本研究は、和洋女子大学平成15年度個人研究費、および文部科学省科学研究費(14700424)の助成によって行われた研究の一部である。ここに感謝いたします。またこの内容は、第58回日本体力医学会大会にて発表した。

文 献

- 1) Nieman DC, Immune response to heavy exertion., J Appl Physiol, **82**, 1385-1394, (1997)
- 2) Pedersen BK, and Ullum H, NK cell response to physical activity: possible mechanisms of action., Med Sci Sports Exerc, **26**, 140-146, (1994)
- 3) Nieman DC, Exercise, infection, and immunity., Int J Sports Med, **15**, S131-S141, (1994)
- 4) Rhind SG, Gannon GA, Suzui M, et al., Indomethacin inhibits circulating PGE2 and reverses postexercise suppression of natural killer cell activity., Am J Physiol, **276**, R1496-R1505, (1999)
- 5) Bishop NC, Gleeson M, Nicholas CW, et al., Influence of carbohydrate supplementation on plasma cytokine and neutrophil degranulation responses to high intensity intermittent exercise., Int J Sport Nutr Exerc Metab, **12**, 145-156, (2002)
- 6) Lancaster GI, Khan Q, Drysdale PT, et al., Effect of prolonged exercise and carbohydrate ingestion on type 1 and type 2 T lymphocyte distribution and intracellular cytokine production in humans., J Appl Physiol, **98**, 565-571, (2005).
- 7) Bagby GJ, Sawaya DE, Crouch LD, et al., Prior exercise suppresses the plasma tumor necrosis factor response to bacterial lipopolysaccharide., J Appl Physiol, **77**, 1542-1547,

(1994)

- 8) Weinstock CD, Konig R, Harnischmacher J, et al., Effect of exhaustive exercise stress on the cytokine response., *Med Sci Sports Exerc*, **29**, 345-354, (1997)
- 9) Nieman DC, Henson DA, Smith LL, et al., Cytokine changes after a marathon race., *J Appl Physiol*, **91**, 109-114, (2001)
- 10) Mitchell JB, Costill DL, Houmard JA, et al., Influence of carbohydrate ingestion on the counter-regulatory hormones during prolonged exercise., *Int J Sports Med*, **11**, 33-36, (1990)
- 11) Nehlsen-Cannarella SL, Fagoaga OR, Nieman DC, et al., Carbohydrate and the cytokine response to 2.5 h of running., *J Appl Physiol*, **82**, 1662-1667, (1997)

北 村 裕 美 (家政学部健康栄養学科助手)

湊 久美子 (家政学部健康栄養学科助教授)